Ricerche sulle secrezioni difensive di Insetti Emitteri Eterotteri
(Hem. Heteroptera)

POR

A. Baggini (*), R. Bernardi (**), G. Casnati (**), M. Pavan (*), A. Ricca (**).

(Pavia, Milano).

1. Introduzione.

Negli Insetti Emitteri Eterotteri si trovano apparati odoriferi che secernono sostanze protettive di offesa e di difesa. Negli adulti le tre categorie di organi sono: 1) l'*apparato odorifero metatoracico*; 2) le *glandole di Brindley*; 3) le *glandole ventrali toraco-addominali*. Nelle forme giovanili (neanidi) degli Eterotteri esistono *glandole dorso-addominali* destinate generalmente a scomparire con la muta imaginale; esse tuttavia permangono, talora ridotte di numero, nelle imagini di numerosi Eterotteri e talora sono destinate addirittura a svilupparsi considerevolmente, dopo l'ultima muta, nel maschio.

L'*apparato odorifero metatoracico* sbocca alla superficie del corpo frequentemente nel metasterno e sui margini delle cavità articolari metacoxali; è presente in quasi tutti gli Eterotteri.

Le *glandole di Brindley* pari, dorsali, si trovano alla base dell'addome presso il bordo laterale; sono presenti nei *Reduvidae s. l.* e nei *Pachynomidae*. Esse si aprono all'esterno in una regione che sembra appartenere al metatorace.

Le *glandole ventrali toraco-addominali* sono costituite da un paio di invaginazioni sacciformi della membrana toraco-addominale. Esse sono presenti in tre sottofamiglie di Reduvidi e cioè nei *Phymatinae, Elasmodeminae* e *Holoptilinae* (Carayon 1962).

Numerosi autori si sono occupati dell'anatomia di tali apparati nei

---

(*) Istituto di Entomologia Agraria dell'Università di Pavia.

(**) Centro di Studio delle sostanze naturali del C. N. R. presso l'Istituto di Chimica del Politecnico di Milano.

vari gruppi di Emitteri Eterotteri e recentemente Carayon (1962) ha riassunto l'argomento con l'apporto di numerosi dati nuovi.

L'emissione di sostanze odorose da parte degli Emitteri Eterotteri ha fatto oggetto di osservazioni e ricerche fin dal secolo scorso (vedi ad es. Carius 1860), ma solo negli ultimi anni la ricerca chimica è stata condotta con la dovuta profondità ed ha portato alla conoscenza esatta di costituenti delle secrezioni protettive (Butenandt e Coll., 1961, 1964; Park e Coll., 1962; Schildknecht e Coll., 1962, 1964; Remold 1963; Yamamoto e Coll., 1964; Devakul e Coll., 1964; Pinder e Coll., 1965; Gilby e Coll., 1965). Una prima sommaria sintesi delle conoscenze è stata pubblicata da Roth e Eisner 1962: in tale lavoro venivano riportati i dati della letteratura per 7 specie di Emitteri con la conoscenza complessiva di 6 sostanze facenti parte delle loro secrezioni difensive.

2. Ricerche personali.

Nelle ricerche sulle secrezioni degli Insetti che noi, isolatamente o in gruppi di lavoro di varia costituzione, perseguiamo da molti anni, abbiamo fatto oggetto di indagine anche alcune specie di Emitteri Eterotteri raccolti da due di noi (M. P. e A. B.) in vari viaggi di ricerca in Africa. In tali occasioni, reperite le specie, sono stati raccolti gli individui per la ricerca ed eseguite localmente le prime preparazioni di estratti o di veleni puri per il successivo studio chimico. Tali materiali sono stati generalmente conservati in frigorifero e trasportati in Europa in condizioni di refrigerazione. La successiva ricerca chimica è stata condotta integralmente in Italia.

Le specie che abbiamo studiato e sulle quali si riferisce nella presente nota, sono elencate nella Tab. 1. In essa si riportano anche le località di provenienza e il tipo di estratto o soluzione di veleno preparato per il successivo studio chimico. Altre specie di Emitteri Eterotteri sono state raccolte, ma lo studio non è ancora ultimato.

Sull'attività tossica delle secrezioni difensive di tali specie abbiamo constatato l'efficacia in saggi estemporanei condotti in Africa su varie specie di Insetti locali. A tale scopo gli Insetti venivano rinchiusi in ambienti confinati nei quali era stato emesso il secreto dall'Eterottero appositamente stimolato e si constatavano le manifestazioni tossiche rispetto ai controlli.

TABELLA 1.

Specie	Località di provenienza	Tipo di estratto
Fam. COREIDAE.		
Leptocoris apicalis Westwood.	Congo: Stanleyville.	— estratto etereo *in toto*.
Fam. PENTATOMIDAE.		
Tessaratoma aethiops Dist.	Repubblica Centro Africana: zona di La Maboké-M'Baiki.	— soluzione eterea del veleno puro di neanidi. — soluzione eterea del veleno puro di adulti. — estratto etereo *in toto* di neanidi e di adulti.
Fam. PLATASPIDAE.		
Ceratocoris cephalicus Montandon.	Congo: Stanleyville.	— estratto etereo *in toto*.
Fam. CYDNIDAE.		
Macroscytus sp.	Repubblica Centro Africana: zona di La Maboké-M'Baiki.	— lavaggio etereo degli adulti con stimolazione per pochi secondi.

Per alcune specie, in particolare *Tessaratoma aethiops* Dist., si è constatato anche dolore acuto sulla pelle colpita dagli spruzzi del secreto difensivo; piccolissime frazioni dello spruzzo negli occhi hanno provocato dolori fortissimi [1].

La ricerca chimica che è stata condotta, come si riferisce nei capitoli 3 e 4, con la metodiche più moderne, ci ha dato i risultati riportati per ogni specie esaminata.

---

[1] Nella Repubblica Centroafricana abbiamo notato che la presenza di questa specie sulle piante è ritenuta dannosa dal personale africano dedito alle colture agrarie e forestali, a causa della reazione dolorifica o delle lesioni oculari provocate dal secreto spruzzato dall'insetto.

Leptocoris apicalis Westwood (Fam. Coreidae).

L'esame dell'estratto etereo *in toto* ha messo in evidenza la presenza di:

trans-ott-2-enale
trans-dec-2-enale
n-ottil-acetato.

Tessaratoma aethiops Dist. (Fam. Pentatomidae).

L'esame della soluzione eterea del veleno puro di adulti, ottenuto facendo emettere il secreto delle glandole metatoraciche, ha dato i seguenti risultati:

trans-es-2-enale
trans-ott-2-enale
4-cheto-trans-es-2-enale
trans-ott-2-enil-acetato
n-tridecano.

L'esame della soluzione eterea del veleno puro delle glandole dorso-addominali ottenuto da forme giovanili (neanidi) ha dato il seguente risultato:

trans-ott-2-enale
4-cheto-trans-es-2-enale
n-tridecano.

Di particolare interesse è il confronto fra la composizione del secreto puro degli insetti adulti e delle neanidi dal quale appare una netta differenziazione; il secreto delle neanidi infatti risulta privo di due componenti sui cinque presenti nell'adulto (sono assenti l'esenale, l'acetato di ottenile). I secreti nei due casi provengono da glandole di diversa natura.

Ceratocoris cephalicus Mont. (Fam. Plataspidae).

Fra i componenti presenti nell'estratto etereo *in toto* si è identificato come fondamentale il n-tridecano. Gli estratti separati di maschi e di femmine hanno la stessa composizione anche per quanto riguarda i prodotti secondari.

Macroscytus sp.

E' stato esaminato un estratto *in toto* ottenuto immergendo gli insetti viventi in etere etilico e comprimendoli leggermente per pochi secondi affinchè emettessero il veleno. Subito dopo tale operazione l'etere venne prelevato. In queste condizioni si è limitato al minimo il passaggio in soluzione di sostanze non appartenenti alla secrezione difensiva. Anche per confronto del risultato dell'esame chimico di tale estratto con la composizione di secreti di altre specie, sembra si possa escludere che i componenti da noi trovati possano appartenere a secrezioni di glandole diverse dalle metatoraciche.

L'esame dell'estratto ha messo in evidenza la presenza di:
4-cheto-trans-es-2-enale
ott-2-enil-acetato
trans-dec-2-enil-acetato
n-dodecano
n-tridecano.

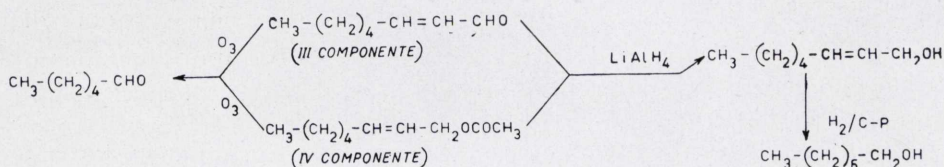
3. Considerazioni generali.

La nostra ricerca sui secreti odorosi degli Emitteri Eterotteri è stata condotta valendosi ampiamente delle metodologie gascromatografiche, sia per la determinazione del numero e della percentuale dei componenti, sia per la loro separazione, ma anche per le indagini strutturali. Si sono infatti condotte reazioni su quantità molto piccole di prodotto [2], seguendo poi le trasformazioni ottenute con la gascromatografia ad ionizzazione di fiamma. Ad esempio, con tali tecniche, nel caso del *Tessaratoma aethiops* Dist., si sono potuti correlare il III° e il IV° componente (V. pag. 14) fra loro e con l'esanale sintetico e con l'alcool n-ottilico:

$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CHO$ (III COMPONENTE)
$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2OCOCH_3$ (IV COMPONENTE)

O_3 → $CH_3-(CH_2)_4-CHO$

$LiAlH_4$ → $CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2OH$ → ($H_2/C-P$) → $CH_3-(CH_2)_6-CH_2OH$

---

[2] Per l'applicazione di queste tecniche al riconoscimento di tracce di composti organici ("reazioni in siringa") vedasi (24).

In tal modo si poterono risolvere problemi strutturali che, date le esigue quantità di prodotto a disposizione, non sarebbe stato possibile chiarire con altre metodiche. Queste tecniche che, a nostra conoscenza, non erano ancora state utilizzate nello studio delle essenze odorose degli Insetti, si sono rivelate ora particolarmente efficaci.

I risultati da noi ottenuti, nel corso di queste indagini, confermano quanto recentement osservato da altri ricercatori (7 a, 14). Nei Pentatomidi sono generalmente presenti composti α, β-insaturi, di natura aldeidica od esteri di alcooli α, β-insaturi, mentre nei Coreidi appaiono i corrispondenti composti ridotti.

Questa suddivisione non deve però ritenersi molto rigorosa; nei Coreidi era già stato riscontrato l'es-2-enale (4) ed ora in *Leptocoris apicalis* W. abbiamo trovato l'ottenale; comunque in questo ultimo caso si trova l'acetato corrispondente, ma saturo, di n-ottile.

In generale i risultati ottenuti sembrano accordarsi con una regola di ampia validità: negli Emitteri Eterotteri sono riscontrabili gli acetati degli alcooli, corrispondenti alle aldeide sature ed insature presenti contemporaneamente nel secreto.

In questa nostra ricerca sono stati messi in evidenza 9 prodotti facenti variamente parte delle secrezioni difensive delle 4 specie citate. Le sostanze trovate sono le seguenti:

aldeidi insature: trans-es-2-enale, trans-ott-2-enale, trans-dec-2-enale
cheto-aldeidi insature: 4-cheto-trans-es-2-enale
acetati saturi: n-ottil-acetato
acetati insaturi: trans-ott-2-enil-acetato, trans-dec-2-enil-acetato
idrocarburi paraffinici normali: n-dodecano, n-tridecano.

Come abbiamo già detto la quantità di prodotti ottenuti dalla ricerca in natura è sempre stata piuttosto limitata. Non è pertanto escluso che, disponendo di nuovi e più abbondanti materiali, un approfondimento della ricerca possa mettere in evidenza altre sostanze. Anche i dati che ci fornisce la letteratura dimostrano che nello studio delle secrezioni di varie specie (ad es. *Nezara*) si è avuto un successivo approfondimento della conoscenza dei prodotti presenti nelle secrezioni con un conseguente aumento del numero delle sostanze che ne fanno parte.

Delle sostanze chimiche trovate nelle nostre ricerche, la maggior parte era già nota per secrezioni di altre specie, mentre ci risulta che il n-ottil-acetato non era stato finora trovato nelle secrezioni difensive degli Emitteri.

Sulla funzione degli idrocarburi nelle secrezioni odorose sono state avanzate varie ipotesi da Remold 1963 (9 bis).

Nel nostro caso si deve escludere che tali idrocarburi provengano dal tegumento o da altre parti dell'insetto; in tal caso sono generalmente riscontrabili miscele di idrocarburi molto complesse (come da noi osservato nel caso del Formicide *Liometopum microcephalum* Panz., lavoro non pubblicato) e le secrezioni anche se non isolate con grande cura, dovrebbero presentare un contenuto in idrocarburi molto più basso che l'estratto *in toto*.

Sull'origine delle sostanze difensive riconosciute presenti nei secreti degli Eterotteri non sono state fatte ancora ricerche particolari. Sembra da escludere che possano in tutto derivare direttamente dall'alimentazione che in genere è a base di succhi vegetali, ma anche, per alcune delle specie considerate, di sostanze organiche animali.

Gordon e Coll. (7 b), che si sono occupati per primi della origine delle sostanze odorose degli Eterotteri mediante sostanze marcate, hanno trovato che il ^{14}C-acetato di sodio iniettato in *Nezara viridula* var. *smaragdula* è stato parzialmente incorporato nei principali componenti del secreto, quali l'esenale, un dicarbonile ancora non noto, decenale e tridecano. Gli Autori interpretano ciò come dimostrazione che i prodotti della secrezione vengono sintetizzati dall'Insetto e non ottenuti per concentrazione di sostanze presenti nella linfa delle piante sulle quali si cibano. Happ e Meinwald (23 bis) esprimono lo stesso parere per il Formicide *Acanthomyops claviger* (Roger) nel quale hanno trovato la capacità di usare acetato e mevalonato marcati, per la biosintesi dei terpeni (citronellale, citrale).

Riteniamo utile riunire nella Tabella 2, con i nostri dati, anche quelli della letteratura riguardante la definizione chimica dei prodotti trovati nelle secrezioni odorifere difensive degli Eterotteri. Per quanto è a nostra conoscenza, risulta dalla Tabella 2 che per ora si è giunti alla definizione della composizione e della struttura di sostanze difensive per 39 specie di Emitteri Eterotteri, con il riconoscimiento definitivo di 33 sostanze diverse. I più comuni composti trovati finora sono il trans-es-2-enale e l'n-esanale in 13 specie, il trans-ott-2-enale e il trans-dec-2-enale in 12 specie. Sostanze trovate finora in una sola specie sono l'acido butirrico (?) in *Amorbus rhombifer* West., il pentenale, il propanale, il furano, il metil furano, il metil-chinone in *Scaptocoris divergens* Frosch., cis-dec-2-enale (tracce), metil-etil-chetone, metil-eptil-chetone (tracce), etil-propil-chetone, 4-cheto- trans-ott-2-enale, 4-cheto-es-2-ene,

n-undecano in *Nezara viridula* var. *smaragdula* F., n-ottil-acetato in *Leptocoris apicalis* West., trans-es-2-enil-butirrato in *Lethocerus indicus* Lep. In quest'ultima specie la sostanza è considerata avere un significato di attrazione sessuale, assieme al trans-es-2-enil-acetato.

Se si considera che gli Emitteri Eterotteri sono tutti dotati di apparati glandolari difensivi multipli e che il gruppo può comprendere almeno 25.000 specie note, e, forse, almeno cinque-dieci volte di più di specie ancora non note, appare evidente che i dati finora raccolti rappresentano una frazione veramente piccola di quanto si potrà fare in questo gruppo di Insetti, anche se essi possono essere ritenuti come un valido campione.

4. Parte sperimentale.

Ricerche su **Tessaratoma aethiops** Dist.

A) *Composizione del secreto ed isolamento dei componenti volatili.*

L'estratto etereo *in toto* presenta all'analisi gascromatografica (Ap. L al 10 % su Chromosorb W-HMDS; 80 - 100 mesh; T 120°, rivelatore ad ionizzazione di fiamma) [3] la seguente composizione [4]:

I°	componente	13.5 %;	$Tr/_{IV}$	0.14
II°	"	3.5 %;	"	0.29
III°	"	16 %;	"	0.47
IV°	"	20 %;	"	1
V°	"	46 %;	"	2.56

L'estratto etereo *in toto* è stato preventivamente concentrato ad una temperatura di circa 0° C, sotto un vuoto di qualche centinaio di mm di Hg.; l'evaporato etereo, bloccato in una trappola raffreddata con miscela frigorifera ed esaminato in gas-cromatografia, (Carbowax 20 M al 10 %, T 132°, rivelatore ad ionizzazione di fiamma) non rivela presenza apprezzabile di prodotti volatilizzati durante il processo di concentrazione.

Sulla soluzione così concentrata è stato realizzato l'isolamento dei singoli componenti mediante cromatografia gassosa preparativa, operan-

---

[3] Si è operato su Hy-Fi A 600 della Wilkens Instr.

[4] Tr/N = tempi di ritenzione relativi all'N° componente.

do su colonna (10' × 1/4") con riempimento di Apiezon L al 20 %, T 120° C, rivelatore a termoconduttività [5]. All'uscita del gascromatografo il gas di trasporto veniva fatto fluire in microtubi muniti di piccole espansioni raffreddate esternamente; entro queste espansioni i singoli componenti venivano condensati. I prodotti così isolati prima dello studio spettrografico e chimico, venivano sottoposti ad un controllo di purezza gascromatografico su apparecchio con rivelatore ad ionizzazione di fiamma (Carbowax 20 M al 10 %, T. 132°).

B) *Caratterizzazione dei singoli componenti.*

I° componente: trans-es-2-enale.

presenta uno spettro I. R. caratterizzato da due bande intense a 1695 cm^{-1} (carbonile α, β-insaturo), a 1640 cm^{-1} (duplice legame coniugato) ed a 980 cm^{-1} (duplice legame trans).

Su colonna con riempimento di Carbowax 20 M al 10 % (T 118° e 130°, rivelatore ad ionizzazione di fiamma), il prodotto dà un picco unitario con tempo di ritenzione corrispondente a quello dell' es-2-enale sintetico.

II° componente: trans-4-cheto-es-2-enale (probabile)

isolato in piccole quantità dal veleno puro degli Insetti adulti, presenta spettro. I. R. in accordo con quello del trans-3-cheto-2-enale (7 a).

III° componente: trans-ott-2-enale

presenta uno spettro I. R. con una netta banda di assorbimento a 2720 cm^{-1} (deformazione vibrazionale di un legame C-H nella funzione aldeidica), a 1690 cm^{-1} (carbonile α, β-insaturo), a 1640 cm^{-1} (duplice legame) ed a 980 cm^{-1} (duplice legame trans).

Una piccola quantità del campione (circa mg 0,1) viene trattata in metanolo con ossigeno ozonizzato ad una T di —10° C e successivamente con piccole quantità di Zn in polvere ed acido acetico diluito; la soluzione viene direttamente esaminata in gascromatografia (rivelatore ad ionizzazione di fiamma, Carbowax 20 M al 10 %, T 76° C): si rivela

---

[5] Si è operato su Aerograph mod. A350, della Wilkens Instr.

un picco unitario con tempo di ritenzione coincidente con quello di un campione di esanale sintetico.

Il prodotto isolato allo stato puro esaminato in confronto con trans-ott-2-enale sintetico (Ap. L al 10 % ; rivelatore ad ionizzazione di fiamma ; T 158°) presenta il medesimo Tr.

IV° componente: acetato di trans-ott-2-enile

presenta uno spettro I. R. con bande [6] caratteristiche a: 1745 cm^{-1} f (esteri saturi); 1665 cm^{-1} d (duplice legame non coniugato); 1230 cm^{-1} f e 1025 cm^{-1} m (C-O in acetati); 965 cm^{-1} m (duplice legame trans) (3).

Circa mg 0,1-0,2 del componente in esame sono sciolti in 0,3-0,5 cm^3 di etanolo ed idrogenati in una provetta su C-Pd. La soluzione viene esaminata in gascromatografia, in confronto sia con il prodotto di partenza, sia con un campione di acetato di n-ottile sintetico (Carbowax 20 M al 10 %, T 140° C, rivelatore ad ionizzazione di fiamma); si nota nella soluzione etanolica del prodotto ridotto un picco unitario con Tr coincidente con quello dell'acetato di n-ottile sintetico e da questi non distinguibile alla prova di cromatografia in miscela.

Si trattano circa mg 0,1-0,2 del componente in esame con cm^3 0,2-0,5 di etere saturo con $LiAlH_4$, la soluzione eterea trattata poi con etere saturo di acqua dà un lieve precipitato che viene eliminato per decantazione. L'esame gascromatografico della suddetta soluzione eterea (Ap. L al 10 %, T 157°, rivelatore ad ionizzazione di fiamma) dà un picco unitario avente il medesimo Tr del prodotto ottenuto per riduzione con $LiAlH_4$ dell'ott-2-enale.

Si trattano mg 0,1-0,2 del componente in esame sciolto in 0,2-0,5 cm^3 di metanolo con ossigeno ozonizzato a —10° C, decomponendo poi con piccole quantità di Zn e acido acetico diluito; l'esame gascromatografico della soluzione tal quale (Carbowax 20 M al 10 %, T 76° C), rivela la presenza di un unico componente con Tr coincidente con il Tr del n-esanale.

La determinazione del P.M. con la spettrografia di massa ha dato un valore di 170; lo spettro di massa è in accordo con quello di un acetato di un alcool ad 8 atomi di carbonio, insaturo.

---

[6] Per l'intensità delle bande si intenda: f = forte, m = media, d = debole.

Tabella 2

HEMIPTERA HETEROPTERA	Acido acetico CH_3COOH	Acido butirrico $CH_3-(CH_2)_2-COOH$	n-esanolo $CH_3-(CH_2)_4-CH_2OH$	propenale $CH_2=CH-CHO$	trans-but-2-enale $CH_3-CH=CH-CHO$	pentenale $CH_3-CH_2-CH=CH-CHO$	trans-es-2-enale $CH_3-(CH_2)_2-CH=CH-CHO$	trans-ept-2-enale $CH_3-(CH_2)_3-CH=CH-CHO$	trans-ott-2-enale $CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CHO$	trans-dec-2-enale $CH_3-(CH_2)_6-CH=CH-CHO$	cis-dec-2-enale $CH_3-(CH_2)_6-CH=CH-CHO$	propanale CH_3-CH_2-CHO	n-butanale $CH_3-(CH_2)_2-CHO$	n-esanale $CH_3-(CH_2)_4-CHO$	metiletilchetone $CH_3-CO-CH_2-CH_3$	metil-eptilchetone $CH_3-CO-(CH_2)_6-CH_3$	etil-propilchetone $CH_3-CH_2-CO-(CH_2)_2-CH_3$	4-cheto-trans-es-2-enale $CH_3-CH_2-CO-CH=CH-CHO$	4-cheto-trans-ott-2-enale $CH_3-(CH_2)_3-CO-CH=CH-CHO$	4-cheto-es-2-ene $CH_3-CH_2-CO-CH=CH-CH_3$	n-esil-acetato $CH_3-(CH_2)_5-O\,COCH_3$	n-butil-butirrato $CH_3-(CH_2)_3-OCO-(CH_2)_2-CH_3$	n-ottil-acetato $CH_3-(CH_2)_7-O\,CO\,CH_3$	trans-es-2-enil-acetato $CH_3-(CH_2)_2-CH=CH-CH_2-O\,CO\,CH_3$	trans-ott-2-enil-acetato $CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2-O\,CO\,CH_3$	trans-dec-2 enil-acetato $CH_3-(CH_2)_6-CH=CH-CH_2-O\,CO\,CH_3$	trans-es-2-enil-butirrato $CH_3-(CH_2)_2-CH=CH-CH_2-O\,CO(CH_2)_2\,CH_3$	n-undecano $C_{11}H_{24}$	n-dodecano $C_{12}H_{26}$	n-tridecano $C_{13}H_{28}$	furano	metilfurano	metil-chinone	Composto/i carbonilico/i	Composto/i dicarbonilico/i	Composto/i carbonilico/i non identificato/i	Chinone non identificato	Riferimento bibliografico
Fam. Corixidae																																					
Corixa dentipes (Thoms.)																	+																			9
Sigara falleni (Fieb.)																	+																			9
Fam. Belostomatidae																																					
Lethocerus indicus Lep.																							+			+											5,6
Fam. Cimicidae																																					
Cimex lectularius L.						70 %		30 %																												12
Fam. Coreidae																																					
Acanthocephala femorata Fab.						+																														4
Acanthocoris sordidus (Thunberg.)						+						+																							15
Agriopocoris froggatti Miller	tr.		6										50							44																14
Amorbus alternatus Dallas	4		5										27							64																14
Amorbus rhombifer Westwood	16	+?	1									+	9							20	53															14
Amorbus rubiginosus (Guer.)	3		4										22							71																13,14
Aulacosternum nigrorubrum Dallas	3		2										5							90																14
Hygia opaca (Uiler)													+																							15
Leptocoris apicalis Westwood								+	+												+														
Mictis caja Stäl	8		5										33							52	2															14
Mictis profana (Fabricius)	5		6										74							15																13,14
Pachycolpura manca Breddin	3		5										52							40																14
Plinachtus bicoloripes Scott													+																							15
Riptortus clavatus (Thunberg)												+																								15
Fam. Hyocephalidae																																					
Hyocephalus n. sp.	tr.		2										98							tr.																14
Fam. Pentatomidae																																					
Aelia fieberi Scott								+	+																											15
Biprorulus bibax									+															+			+	+								8
Brachymena quadripustulata (F.)						+																														3
Carpocoris purpureipennis (De Geer)																													+								9 bis
Dolycoris baccarum L.						50 %		20 %	5 %																								25 %				11,12
Eurygaster sp.						60 %		20 %																											20 %		12
Euschistus servus Say (1)																																					1
Graphosoma rubrolineatum (Westwood)									+				+																							15
Menida Scotti Puton									+																										+		15
Nezara antennata Scott									+																											15
Nezara viridula L. (1)									+																										+		1,15
Nezara viridula var. *smaragdula* F.				+	+		+		+	+	tr.				+	tr.	+	+	+	+				+	+	+		+	+	+					+			7,13 7 bis
Oebalus pugnax F. (2)							+																					+					+			1,2
Palomena viridissima P.						3 %		5 %	25 %																										40 %		12
Poecilometis strigatus Westw.						+		+																										+			13
Rhoecocoris sulciventris Stäl (3)						+		18 %	0,6 %															2,' %				1,1 %	78 %					+			8,13
Scotinophara lurida Burmeister						+		+	+																										+		15
Tessaratoma aethiops Dist.						+		+^{0}									+^{0}							+					+^{0}							
Fam. Plataspidae																																					
Ceratocoris cephalicus Montandon																													+								
Fam. Cydnidae																																					
Macroscytus sp.																	+							+	+			+	+								(4)
Scaptocoris divergens Froeschner				+	+	+	+	+	+			+																			+	+	+				+	10

(1) Secondo Blum e Traynham, 1960, il secreto ha una composizione del tutto uguale a quella di *Oebalus pugnax* (F.).
(2) Secondo Blum e Traynham, 1960, il secreto contiene anche 6 componenti includenti: 1 dicarbonile insaturo e 1 monocarbonile, 1 alcool, 1 acido.
(3) Secondo Park e Sutherland, 1962, il secreto contiene anche 4 componenti in piccolissima quantità.
(4) Idrocarburo di formula bruta $C_{10}H_{16}$.
+^{0} Trova o anche nelle forme giovanili (neanidi).
tr. = tracce.
N. B. Mukerji e Sharma, 1966, trovano *trans*-4-epten-ale $CH_3CH_2CH=CH\,CH_2CH_2-CHO$ in un Pentatomide dell'India che denominano Black Hemiptera Bug.

V° componente: n-tridecano

presenta uno spettro I. R. con le bande caratteristiche di un idrocarburo saturo.

All'esame gascromatografico (rivelatore ad ionizzazione di fiamma, Ap. L al 10 %, T 150°) presenta un Tr corrispondente al n-tridecano.

C) *Confronto fra la composizione del secreto di forme giovanili (neanidi) ed adulti.*

Sono state esaminate e confrontate in gascromatografia le composizioni del secreto odoroso raccolto direttamente da insetti adulti, ottenendo i risultati esposti nella Tab. 3.

TABELLA 3.

Secreto esaminato	Componenti					
	I° esenale	II° 4-chetoesenale	III° ottenale	IV° acetato di ottenile	V° n-tridecano	incogniti
Secreto di forme giovanili (neanidi)	//	$Tr_V = 0.93$ 11 %	$Tr_V = 0.18$ 27,5 %	//	$Tr_V = 1$ 65 %	4 componenti volatili in piccole percentuali
Secreto insetti adulti	$Tr_V = 0.055$ 11 %	$Tr_V = 0.95$ 7,5 %	$Tr_V = 0.18$ 15 %	$Tr_V = 0.40$ 19 %	$Tr_V = 1$ 42 %	$Tr_V = 0.11$ 5,5 %

Ap. 1 al 10 % su Chromosorb HMDS; mesh 80-100, T = 120° C; rivelatore ad ionizzazione di fiamma; Tr_V = tempi di ritenzione relativi al V° componente.

Questi risultati sono confermati qualitativamente per via gascromatografica su colonna con riempimento di Carbowax 20 M (10 % su Chromosorb P, 60-80 mesh, T 130°, rivelatore ad ionizzazione di fiamma); i valori percentuali variano però notevolmente anche da una prova all'altra.

Comunque anche in queste condizioni operative, si esclude la presenza di esenale e dell'acetato di ottenile.

Ricerche su **Leptocoris apicalis** Westwood.

A) *Composizione del secreto ed isolamento dei componenti volatili.*

Viene esaminato l'estratto etereo *in toto* di qualche decina di individui. L'esame della soluzione eterea viene condotto per via gascromatografica; i risultati più soddisfacenti si ottengono su colonna di Ap. L. al 10 %, T 159°, rivelatore ad ionizzazione di fiamma, rilevando i seguenti componenti fondamentali [7]:

I°	componente	40 % ;	Tr/1	1
II°	"	39 % ;	"	1,68
III°	"	11,7 % ;	"	2,78
IV°	"	3,6 % ;	"	4,22
V°	"	5,9 % ;	"	4,75

La separazione dei componenti suddetti viene realizzata mediante cromatografia gassosa preparativa operando su colonna (10' × 1/4") con riempimento di Ap. L. al 20 %, T 150°, flusso cm³ 60/min. rivelatore a termoconduttività; i singoli componenti sono raccolti direttamente all'uscita dell'apparecchio con modalità analoghe a quelle già descritte in procedenza (v. pag. 14).

In queste condizioni operative non sono rilevabili il IV° ed il V° componente; si è proceduto pertanto alla raccolta ed all'esame dei primi tre componenti che costituiscono circa il 90 % del secreto esaminato con rivelatore ad ionizzazione di fiamma.

B) *Caratterizzazione dei singoli componenti.*

I° componente: acetato di n-ottile

presenta lo spettro I. R. con bande [8] caratteristiche a: 1745 cm^{-1} f (esteri saturi); 1250 cm^{-1} m e 1025 cm^{-1} m (C-O in acetati).

---

[7] $Tr/_N$ = Tempi di ritenzione relativi all'N° componente.

[8] Per l'intensità delle bande vedasi la nota [6].

All'esame spettrografico di risonanza nucleare magnetica, data la piccola quantità a disposizione del campione, è stato possibile rilevare chiaramente un segnale a 2ppm attribuibile al raggrupamento CH_3 — COOR.

Sia nello spettro I. R. che N. M. R. sono assenti segnali attribuibili alla presenza di altre eventuali funzioni nella molecola in esame; si possono escludere su queste basi anche eventuali insaturazioni.

Il confronto diretto tra questo componente ed un campione sintetico di acetato di n-ottile comporta alla gascromatografia eguale Tr ed alla spettrografia infrarossa eguale spettro di assorbimento.

Ad ulteriore conferma della struttura si conduce la seguente prova di degradazione chimica: circa mg 0,1-0,2 del componente puro, sciolti in cm^3 0,5 di etere anidro, sono trattati con $LiAlH_4$ come prima descritto (v. a pag. 11).

La soluzione eterea, esaminata alla gascromatografia, mostra un solo picco con Tr uguale a quello dell'alcool n-ottilico sintetico; anche all'esame in miscela si ottiene picco unitario.

II° componente: trans-ott-2-enale

presenta lo spettro I. R. con una netta banda di assorbimento a 2720 cm^{-1} (deformazione vibrazionale di un legame C — H di una funzione aldeidica), a 1695 cm^{-1} (carbonile α, β-insaturo), a 1640 cm^{-1} (duplice legame) ed a 980 cm^{-1} (duplice legame trans).

Su di un diagramma log Tr/n_c costruito per le aldeidi α, β-insature da sei a dieci atomi di carbonio, il componente in esame presenta un valore del log Tr coincidente con quello dell'ottenale.

A conferma della struttura il componente raccolto direttamente all'uscita dell'apparecchio gascromatografico in una soluzione acquosa cloridrica di 2,4-dinitrofenilidrazina, dà un precipitato. Questi su piastra (silicagel G —Merck acetato di etile/cicloesano = 20/80) presenta un R_f coincidente con quello del 2,4-dinitrofenilidrazone dell'ott-2-enale sintetico; separato per centrifugazione e dopo microcristallizzazione in etanolo presenta uno spettro di assorbimento nell'U. V. con massimo a 373 mμ caratteristico dei dinitrofenilidrazoni dei composti carbonilici α, β-insaturi ed un p. f. di 121-123° (misurato all'apparecchio di Kofler) anche alla prova di fusione in miscela con un campione sintetico.

III° componente

raccolto direttamente dalla gascromatografia preparativa in una soluzione acquosa cloridrica di 2,4-dinitrofenilidrazina, forma un precipitato che, separato per centrifugazione, da su piastra (v. condizioni riportate nel caso precedente) un R_f coincidente con quello del corrispondente derivato del 2-decenale.

Sul diagramma log Tr/n_c costruito per le aldeidi insature da sei a dieci atomi di carbonio presenta un valore del log Tr vicino a quello del dec-2-enale sintetico.

Non si è potuti giungere ad una conferma definitiva della struttura in questione data la quantità di sostanza a disposizione.

Ricerche su **Ceratocoris cephalicus** Mont.

A) *Composizione del secreto ed isolamento dei componenti volatili.*

Viene esaminato l'estratto etereo *in toto* di qualche decina di individui. L'esame viene condotto direttamente sull'estratto etereo con apparecchio munito di rivelatore ad ionizzazione di fiamma. I risultati più soddisfacenti ottenuti su colonna di Ap. L. (riempimento al 10 %, su Chromosorb W, T 159°) danno la seguente composizione relativa del volatile [9]:

I°	componente	2 %	$Tr/_{III}$	0,6
II°	"	9,6 %	"	0,8
III°	"	87 %	"	1
IV°	"	2,5 %	"	1,38

Un esame condotto su colonna con riempimento di BDS (BDS al 10 %; T 216°) conferma i risultati precedenti.

III° componente: n-tridecano

E' stato possibile giungere all'isolamento solo del III° componente mediante gascromatografia preparativa (Ap. L. 20 %, rivelatore a termoconduttività, T 150°).

---

[9] Vedasi nota [7].

Il prodotto così isolato presenta uno spettro I. R. tipico da idrocarburo saturo. Lo spettro di risonanza nucleare magnetica rivela esclusivamente segnali attribuibili a gruppi CH_3 (circa 6 H) e CH_2 (circa 22 H); da tali valori numerici si deduce una struttura da idrocarburo lineare saturo di formula $C_{13}H_{28}$ ($\pm$ $1CH_2$).

Sulla base del diagramma log Tr/n_c per idrocarburi normali e saturi da 10 a 16 atomi di carbonio è stato possibile attribuire al composto in esame la struttura n-$C_{13}H_{28}$.

Non si è potuto invece giungere all'isolamento ad alla caratterizzazione dei componenti secondari, date le piccole percentuali presenti nel secreto ed il numero esiguo di insetti reperiti.

B) *Confronto fra estratto in toto da maschi e femmine.*

Vengono confrontati gli estratti eterei *in toto* provenienti da una decina di individui maschi e da circa un ugual numero di femmine.

Il confronto viene condotto per vie gascromatografiche (Ap. L. al 10 %, T 160°; BDS al 10 %, T 216°) non rilelando nè differenze qualitative nè quantitative.

Ricerche su **Macroscytus** sp.

A) *Composizione del secreto ed isolamento dei componenti volatili.*

L'estratto etereo (ottenuto per estrazione *in toto* di 2.160 individui), concentrato cautamente, presenta all'esame gascromatografico (Carbowax 20 M al 10 % su Chromosorb P; T 143°; rivelatore ad ionizzazione di fiamma) i seguenti componenti fondamentali [10]:

I°	componente	36 %;	$Tr/_{III}$	0,33
II°	"	4 %;	"	0,75
III°	"	21 %;	"	1
IV°	"	1,7 %;	"	1,28
V°	"	37 %;	"	1,9

[10] V. nota [7].

La gascromatografia preparativa è stata eseguita operando su colonna con riempimento di Apiezon L al 20 %, T 185°, rivelatore a termoconduttività. Si è pervenuti all'isolamento dei componenti corrispondenti al picco I°, III°, V°, che costituiscono circa il 95 % della miscela; i singoli componenti risultano unitari al controllo gascromatografico (rivelatore ad ionizzazione di fiamma, condizioni sopra riportate).

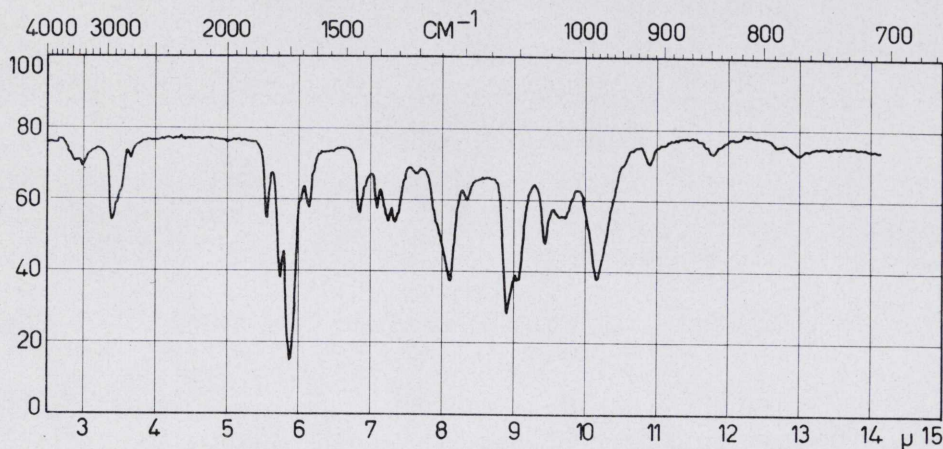



Fig. 1.—Spettro I. R. del trans-4-cheto-es-2-enale presente in *Macroscytus* sp.

B) *Caratterizzazione dei singoli componenti.*

I° componente: trans-4-cheto-es-2-enale

presenta lo spettro. I. R., riportato in fig. 1, ed un assorbimento nell'U. V. λ_{max}^{EtOH} 218, $E_{1\,cm}^{1\,\%}$ 800, in accordo con i dati della letteratura (4).

II° componente: n-dodecano e acetato di ott-2-enile

non è stato possibile l'isolamento in gascromatografia; l'esame diretto del secreto alla spettrografia di massa, accoppiata alla gascromatografia, ha messo in evidenza che il 2° picco è costituito da due componenti identificati come l'idrocarburo $nC_{12}H_{26}$ (90 % circa) e il composto $C_{10}H_{16}$ (10 % circa) corrispondente all'acetato di ott-2-enile.

III° componente: n-tridecano

presenta uno spettro I. R. paraffinico. Il Tr ed il confronto in miscela con l'idrocarburo separato dalle altre specie esaminate *(Tessaratoma, Ce-*

ratocoris) conferma trattarsi dell'idrocarburo n-$C_{13}H_{26}$ (condizioni prima riportate).

Alla spettrografia di massa si osserva un P. M. uguale a 170 ed una frammentazione caratteristica delle paraffine normali.

IV° componente: acetato di trans-dec-2-enile

presenta uno spettro I. R. caratteristico per un acetato di un alcool trans-α, β-insaturo, molto simile a quello dell'acetato di ott-2-enile precedentemente isolato. Il Tr presentato dal componente in esame fa però pensare all'acetato di un alcool omologo superiore; mediante le microtecniche già usate precedentemente (v. pag. 11) si ha: *a)* un campione di 0,1-0,2 mg dopo idrogenazione con C-Pd al 5 % in etanolo presenta in gascromatografia (Carbowax 10 % e Bentonite 34, T 148°) un Tr corrispondente a quello dell'acetato di n-decile. *b)* un campione di 0,1-0,2 mg per trattamento con $LiAlH_4$ in etere si trasforma in un nuovo composto a Tr (relativo al decanolo) = 1,25 (T 140°, su Carbowax 20 M Bentonite 34); questi dopo trattamento con H_2 in presenza di C-Pd si trasforma ulteriormente in un componente con Tr coincidente con quello del n-decanolo (condizioni operative identiche). *c)* facendo passare in soluzione etanolica, contenente 0,1-0,2 mg di prodotto, una lenta corrente di O_2 ozonizzato nelle condizioni già descritte si rivela un componente con Tr coincidente con quello dell'ottanale. Rimane quindi provato che il componente V° è l'acetato di trans-dec-2-enile.

Con la spettrografia di masa è stato inoltre messo in evidenza come componente secòndario, volatile, un composto a P. M. 136 di formula bruta $C_{10}H_{16}$: si tratta probabilmente di un dimero dell'isoprene.

5. Ringraziamenti.

Si ringrazia l'European Research Office (Frankfurt) del Governo degli Stati Uniti i cui finanziamenti messi a disposizione di M. Pavan hanno consentito la raccolta e preparazione in Africa dei materiali che fanno oggetto della presente ricerca e di altri studi in corso.

Si esprime riconoscenza ai prof. R. Heim, A. S. Balachowsky, J. Carayon (Muséum National d'Histoire Naturelle di Parigi), al Dr. M. Saccas e Mlle. J. Charpentier (Centre Agronomique de l'I. R. A. T. de Boukoko, Rep. Centrafricaine), a Mr. R. Pujol (Station Experimentale de La Maboké, Rep. Centrafricaine), per gli aiuti e le facilitazioni date-

ci nello svolgimento delle ricerche nella Repubblica Centroafricana e al Museo di Parigi. Si ringrazia il Dr. T. Salvatori dei Laboratori di Ricerca dell'E. N. I. per alcune misure sulla spettrografia di massa ed il Tecnico del C. N. R. Signor S. Pedrazzini per la preziosa cooperazione in Africa.

Letteratura.

A. Sulla chimica delle secrezioni degli Emitteri Eterotteri.

(1) BLUM, M. S., TRAYNHAM, J. G.
1960. The chemistry of the pentatomid scent gland. XI Int. Kongr. f. Entom., Wien 1960, Verh. B. III : 48-52.

(2) BLUM, M. S., TRAYNHAM, J. G., CHIDESTER, J. B., BOGGUS, J. D.
1960. n-Tridecane and trans-2-Heptenal in Scent Gland of the Rice Stink Bug *Oebalus pugnax* (F.). Science, 132 (3438): 1480-1481.

(3) BLUM, M. S.
1961. The Presence of 2-hexenal in the Scent Gland of the Pentatomid *Brachymena quadripustulata*. Ann. Entom. Soc. Am., 54 (3): 410-412.

(4) BLUM, M. S., CRAIN, R. D., CHIDESTER, J. B.
1961. *Trans*-2-Hexenal in the Scent Gland of the Hemipteran *Acanthocephala femorata*. Nature, 189 (4760) : 245-246.

(5) BUTENANDT, A., TÂM, N.
1957. Über einen geschlechtsspezifischen Duftstoff der Wassserwanze *Belostoma indica* Vitalis (*Lethocerus indicus* Lep.). Zeitsch. Physiol. Chem., 308: 277-283.

(6) DEVAKUL, V., MAARSE, H.
1964. A second Compound in the Odorous Gland Liquid of the Giant Water Bug *Lethocerus indicus* (Lep. and Serv.). Anal. Bioch., 7: 268-274.

(7a.) GILBY, A. R., WATERHOUSE, D. F.
1965. The composition of the scent of the green vegetable bug, *Nezara viridula*. Proc. Roy. Soc. B, 162: 105-120.

(7b.) GORDON, H. T., WATERHOUSE, D. F., GILBY, A. R.
1963. Incorporation of ^{14}C-Acetate into Scent Constituents by the Green Vegetable Bug. Nature, 197 (4869) : 818.

(7c.) MUKERJI, S. K., SHARMA, H. L.
1966. Investigations on the offensive odour of Hemiptera-Bugs. Tetr. Letters, 22: 2479-2481.

(8) PARK, R. J., SUTHERLAND, M. D.
1962. Volatile constituents of the bronze orange bug, *Rhoecocoris sulciventris*. Austr. Journ. Chem., 15 (1) : 172-174.

(9) PINDER, A. R., STADDON, B. W.
1965. *Trans*-4-oxohex-2-enal in the Odoriferous Secretion of *Sigara falleni* (Fieb.) (Hemiptera-Heteroptera). Nature, 205 (4966) : 106-107.

(9 bis) REMOLD, H.
1963. Scent-glands of land-bugs, their physiology and biological function. Nature, 198 (4882) : 764-768.

(10) ROTH, L. M.
1961. A Study of the Odoriferous Glands of *Scaptocoris divergens* (Hemiptera: Cydnidae). Ann. Ent. Soc. Am., 54 (6) : 900-911.

(11) SCHILDKNECHT, H., WEIS, K. H., VETTER, H.
1962. α, β-ungesättigte Aldehyde als Inhaltestoffe der Stinkblasen der Blattwanze *Dolycoris baccarum* L. Zeitsch. Naturforsch., 17b (5) : 350-351.

(12) SCHILDKNECHT, H., HOLOUBEK, K., WEIS, K. H., KRÂMER, H.
1964. Defensive Substances of the Arthropods, their Isolation and Identification. Angew. Chem. Internat. Edit., 3 (2) : 73-82.

(13) WATERHOUSE, D. F., FORSS, D. S., HACKMAN, R. H.
1961. Characteristic odour components of the scent of stink bugs. J. Ins. Physiol., 6 (2) : 113-121.

(14) WATERHOUSE, D. F., GILBY, A. R.
1964. The adult scent glands and scent of nine bugs of the superfamily Coreoidea. J. Ins. Physiol., 10 : 977-987.

(15) YAMAMOTO, I., TSUYUKI, T.
1964. Odorous principles from Stink Bugs. I. U. P. A. C. Int. Symp, Chem. Nat. Prod., Kyoto 1964 : 133-134.

B. Generale.

(16) CARAYON, J.
1962. Observations sur l'appareil odorifique des Hétéroptères particulièrement celui des *Tingidae, Vianaididae* et *Piesmatidae*. Cahiers des Naturalistes, 18 (1) : estratto 1-16.

(17) CARIUS, L.
1860. Über eine neue Saüre der Reihe $C_n H_{2n-2} O_2$. Ann. Chem. u. Pharmac., 114 : 147-156.

(18) CONRADI, A. J.
1904. Variation in the protective value of the odoriferous secretions of some Heteroptera. Science, 19: 393.

(19) CRESCITELLI, F., GEISSMAN, T. A.
1962. Invertebrate pharmacology selected topics. Ann. Rev. Pharmac., 2: 143-192.

(20) EDWARDS, J. S.
1960. Spitting as a defensive mechanism in a predatory Reduviid. XI Int. Kongr. f. Entom., Wien 1960, Verh. B. III: 259-263.

(21) EDWARDS, J. S.
1961. The action and composition of the saliva of an assassin bug *Platymeris rhadamanthus* Gaerst. (Hemiptera, Reduviidae). J. Exp. Biol., 38: 61-77.

(22) GILMOUR, D.
1961. The Biochemistry of Insects. Academic Press, New York and London: 1-343.

(23) GILMOUR, D
1965. The Metabolism of Insects. Oliver & Boyd, Edinburgh and London: 1-195.

(23 bis.) HAPP, G. M., MEINWALD, J.
1965. Biosynthesis of Arthropod secretions. J. Monoterpenes sinthesis in an Ant *(Acanthomyops claviger)*. J. Am. Chem. Soc., 87 (11): 2507-2508.

(24) HOFF, J. E., FEIT, E. D.
1964. Anal. Chem., 36: 1003.

(25) KAISER, E., MICHL, H.
1958. Die Biochimie der tierischen Gifte. Franz Deuticke Wien: 1-258.

(26) PICK, F.
1954. Présence d'histamine chez les Réduvidés hématophages. C. R. Ac. Sc., 239 (17): 1076-1078.

(27) POISSON, R.
1951. Ordre des Hétéroptères: 1657-1803 in GRASSÈ, P. P., 1951: Traité de Zoologie, 10 (2), ed. Masson, Paris.

(28) ROTH, L. M., EISNER, T.
1962. Chemical defenses of Arthropods. Ann. Rev. Entom., 7: 107-136.